EINE NEUE METHODE ZUM QUANTITATIVEN HARNSÄURENACHWEIS UND IHRE ANWENDUNG AUF MIKROPUNKTIONSUNTERSUCHUNGEN AN DER RATTENNIERE

RAINER FRIEDEMANN GREGER

1972

PRINT KG
8 München 23
Clemensstraße 27
Telefon 342149

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546017_0081

AUS DEM PHYSIOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor : Professor Dr. K. Kramer

EINE NEUE METHODE ZUM QUANTITATIVEN HARNSÄURE-NACHWEIS UND IHRE ANWENDUNG AUF MIKROPUNKTIONS-UNTERSUCHUNGEN AN DER RATTENNIERE.

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin

verfaßt und einer hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rainer Friedemann Greger

München

1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. P. Deetjen

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Kramer

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.1.1972

EINTEILUNG:

1.;	EINLEITUNG	1
2.;	METHODIK	4
2.1;	Tierexperimentelle Methodik	4
2.1.1;	Versuchstiere	4
2.1.2;	Narkose	4
2.1.3;	Präparation	4
2.1.4;	Mikropunktion	5
2.1.5;	Längenmessung	6
2.2;	Chemische Analysen	6
2.2.1;	Inulinbestimmung in Plasma, Urin und Tubulusflüssigkeit	6
2.2.2;	Harnsäurebestimmung in Plasma, Urin und Eichlösungen	7
2.2.3;	Harnsäurebestimmung in der Tubulusflüssigkeit	7
2.2.3a;	Einleitung	7
2.2.3.b;	Reagentien	10
2.2.3.c;	Prozedur	11
2.2.3.d;	Ultramikroküvette	14
2.3;	Diskussion zur chemischen Methode	19
2.3.1;	Ultramikroanalyse	19
2.3.2;	Ultramikroküvette	22
2.3.3;	Plasmaharnsäurebestimmung und Ultramikroanalyse	23

3;	ERGEBNISSE DES TIEREXPERIMENTELLEN TEILES	25
3.1;	Harnsäureclearance	25
3.2;	Mikropunktionsergebnisse	25
4;	DISKUSSION DER TIEREXPERIMENTELLEN BEFUNDE	34
4.1;	Transport am proximalen Tubulus	34
4.2;	Mechanismus des Transportes	37
4.3;	Clearancebefunde	37
4.4;	Ort der Harnsäure-Netto-Resorption	38
5;	ZUSAMMENFASSUNG	40
6;	ANHANG	42
6.1;	Erläuterungen	42
6.2;	Abkürzungen	45
7;	LITERATURVERZEICHNIS	47

EINLEITUNG :

In der renalen Behandlung der Harnsäure bestehen bei verschiedenen Tieren erhebliche Unterschiede. Wählt man das Ausmaß der Harnsäureausscheidung zum Kriterium, so bietet sich eine Unterteilung in mindestens drei Gruppen an:

Erstens Tiere, die eine sehr starke Harnsäureexkretion besitzen wie z. B. die Sauropsiden also Reptilien und Vögel. Bei dieser Tiergruppe wird der größte Teil des aus dem Eiweißabbau anfallenden Stickstoffes als Harnsäure ausgeschieden. Im Urin dieser Tiere findet sich weit mehr Harnsäure als glomerulär filtriert wurde, beim Huhn beispielsweise 15 mal so viel (43).

In der zweiten Gruppe lassen sich Tiere zusammenfassen, die eine schwächere aber immer noch überschießende Ausscheidung zeigen. In diese Gruppe gehören unter anderem die Ziege (34), das Meerschweinchen (33) und der Dalmatiner Hund (47). Diese Tiere haben immer noch höhere Harnsäure als Inulin-Clearances[§] allerdings mit großen individuellen Schwankungen.

In der dritten Gruppe wird weniger Harnsäure ausgeschieden als glomerulär filtriert wird. Typische Vertreter dieser Gruppe sind Ratte, Hund (4, 34) und auch der Mensch (48, 50). Gerade diese Gruppe ist hinsichtlich der Transportvorgänge von großem Interesse, auch

---

§ siehe 6; ANHANG unter der jeweiligen Seitenzahl

in Hinblick auf pathologische Veränderungen der renalen Harnsäurebehandlung, wie z. B. Gicht (20) und Uratsteine.

Durch Stop Flow Technik§ wurde der Ort des renalen Transportes zu lokalisieren versucht. Nach diesen Experimenten sollte Harnsäure im proximalen Tubulus nahezu quantitativ durch einen aktiven Prozess resorbiert werden (49) . Das Ausmaß der Harnsäureausscheidung sollte dann ein distaler Sekretionsmechanismus bestimmen (10, 49, 21, 19) . Diese Vorstellung wurde durch neuere Untersuchungen in Frage gestellt. (34, 52, 23) . Danach sollte der distale Tubulus nicht zur Harnsäuresekretion befähigt sein. In anderen Experimenten konnte auch am Hund eine höhere Harnsäureausscheidung, die sogar die filtrierte Menge überstieg, dadurch erreicht werden, daß neben der Erhöhung des Harnsäurespiegels im Blut (durch Harnsäureinfus ion) eine osmotische Diurese§ erzeugt wurde. (25, 21) . Danach muß also die Niere auch dieser Tiere zu einer Harnsäuresekretion befähigt sein. Das heißt, Harnsäure muß zusätzlich zu der durch Filtration in die tubuläre Flüssigkeit gelangenden Menge aus dem Nierenblut extrahiert und über die Nierenzellen in der Tubulusflüssigkeit akkumuliert werden können. Es wurde angenommen, daß dieser Sekretionsmechanismus im proximalen Tubulus lokalisiert ist und rein passiv ablaufen sollte. (52) .

Bei diesem Stand der teilweise widersprüchlichen Befunde schien es sinnvoll in Mikropunktionsuntersuchungen direkt am Nephron das Konzentrationsprofil für Harnsäure entlang des proximalen Tubulus zu studieren. Die große Schwierigkeit hierbei, die vorab zu lösen war, lag in der Entwicklung einer quantitativen Analysemethode für Harnsäure im Ultramikrobereich. Denn das Volumen der bei der Mikropunktion erhaltenen Proben übersteigt nur selten 50 nl (50×10^{-9} l).
Dieses Problem ist dadurch noch erschwert, daß erstens die Plasmakonzentration von Harnsäure bei der Ratte niedrig ist (ca. 0.8 - 1.5 mg% , das entspricht etwa 0.05 - 0.1 mMol/l) und daß auch für den Makrobereich nur relativ komplizierte und wenig empfindliche Nachweismethoden bekannt sind.

2; METHODIK

2.1; Tierexpertimentelle Methode

2.1.1;Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Wistarratten mit einem Körpergewicht von 200 - 300 gr. Die Tiere erhielten eine Altromin Standarddiät bis 12 Stunden vor Versuchsbeginn und Wasser ad libidum.

2.1.2; Narkose

Natriumbarbiturat (Inaktin) in einer Dosierung von 120 mg / kg Körpergewicht intraperitioneal injiziert diente als Narkose.

2.1.3; Präparation

Die Präparation der Tiere erfolgte auf einem elektrisch beheizten Operationstisch, dessen Temperatur durch die Körpertemperatur der Tiere über ein Rektalthermometer elektronisch reguliert wurde.

Zunächst wurde den Tieren ein Trachealkatheter, der wie alle übrigen Katheter aus Polyäthylen gefertigt war, eingebunden. Die linke V. jugularis wurde mit zwei Venenkathetern versehen. Über den einen erhielten die Tiere eine Infusion von Ringerlösung, die 2 gr/100ml Inulin enthielt. Die Infusionsgeschwindigkeit war 0.1 ml / kg x min. Der zweite Katheter war an eine Tuberkulinspritze angeschlossen, die eine gepufferte Lisamingrünlösung enthielt. Durch Injektion von 0.03 ml dieser Lösung wurde die Nierenfunktion[§] geprüft.

In unseren Ergebnissen sind nur solche Tiere aufgeführt, die eine Farbpassagezeit von weniger als 12 Sekunden durch das proximale Konvolut hatten, und bei denen bis zum Erscheinen des Farbstoffes im distalen Konvolut höchstens 35 Sekunden vergingen.
In die linke A. femoralis wurde ein Katheter eingebunden, um in regelmäßigen Abständen arterielles Blut für die Bestimmung der Konzentration von Harnsäure und Inulin im Plasma entnehmen zu können.
Durch einen Flankenschnitt wurde die linke Niere freigelegt. Nach Entfernung der Fettkapsel wurde sie in eine gut mit Watte gepolsterte Nierenschale eingebettet. Während des Versuches wurde die Niere mit Paraffinöl überströmt. Die Öltemperatur wurde über einen Thermostaten auf Körpertemperatur konstant gehalten.
Durch einen Blasenkatheter wurde Urin entnommen, um laufend die Urinkonzentration von Harnsäure und Inulin bestimmen zu können.

2.1.4; Punktion
Die Punktion wurde durchgeführt mit Mikropunktionspipetten, die aus Kapillarglas auf einen Spitzendurchmesser von 10 - 12 u (10 - 12 x 10^{-3} mm) ausgezogen waren. Diese Spitzen wurden scharf angeschliffen, und die Kapillare anschließend mit Rhizinusöl gefüllt.
Die Sammelperioden bei der Mikropunktion dauerten meist 5 - 10 Minuten, niemals aber länger als 15 Minuten.

Am Ende jeder Punktion wurde der Tubulus von der Punktionsstelle aus mit flüssigem Neopren gefüllt, das im Tubulus schnell erhärtet (6) .

2.1.5; Längenmessung der Tubuli
Nach 30-minütiger Mazeration der Niere in 1-normaler Salzsäure am Ende des Emperimentes wurden die einzelnen Neoprenfüllungen unter einem Meßmikroskop disseziert. und so für jede Punktion die Länge vom Glomerulum bis zur Punktionsstelle gemessen.

2.2; Chemische Analysen

2.2.1; Inulinbestimmung
Die Messung der Inulinkonzentration in Blut und Urinproben geschah mit der Anthronmethode nach FÜHR und KACMARCZYK (17) . Die tubuläre Konzentration wurde mit der für den Ultramikrobereich modifizierten Methode (22) bestimmt. Dabei erlaubte die Verwendung der unten beschriebenen Küvette eine Verringerung des Probenvolumens auf ca. 1 - 3 nl (1 - 3 x 10^{-9} 1) .

2.2.2; Harnsäurebestimmung in Urin, Plasma und Eichlösungen

In Urin und Plasmaproben sowie den Eichlösungen, die für die Mikrobestimmung verwandt wurden, erfolgte die Messung der Harnsäurekonzentration mit der Uricasemethode. Die Reagentien hierfür sind in der Testcombination von BOEHRINGER & SOEHNE enthalten.

2.2.3; Harnsäurebestimmung in Mikropunktionsproben

2.2.3a; Einleitung

Aus den bestehenden Analyseverfahren für Harnsäure war eine geeignete Reaktion auszuwählen und auf den Ultramikrobereich abzuändern. Die Anforderungen, die wir an die Ultramikroanalyse zu stellen hatten, waren:

1. Spezifität auf Harnsäure.
2. Eine absolute Menge von 10^{-12} Mol sollte nachweisbar sein.
3. Sollte die zugrundeliegende Reaktion einfach sein und ihre Durchführung möglichst wenige Pipettierschritte enthalten, um möglichst große Meßgenauigkeit zu gewährleisten.

Die bestehenden Harnsäurebestimmungen lassen sich in drei große Gruppen einteilen:

1. Die Redoxreaktionen von Harnsäure mit Phosphorwolframsäure nach FOLIN und DENIS (16) .
   In dieser Reaktion werden komplizierte Phosphorwolframsäuren, die als Heteropolysäuren vorliegen, durch Urat

(das Salz der Harnsäure) zu einem blauen Mischoxyd aus WO_2 und WO reduziert. Die optische Dichte[§] dieses Farbstoffes ist ein Maß für die Harnsäurekonzentration.

2. Uricase-Methoden. Harnsäure hat im ultravioletten Spektralbereich bei 293 nm (293×10^{-6} mm) ein Absorptionsmaximum. Mißt man die Extinktion[§] einer Probe bei dieser Wellenlänge, baut dann die Harnsäure durch das Enzym Uricase ab und mißt erneut die Extinktion, dann erhält man in der Extinktionsdifferenz der ersten und zweiten Messung ein Maß für die Harnsäurekonzentration der Probe. (26, 41). Dieser Umweg der zweimaligen Messung ist deshalb notwendig, weil auch andere biologisch vorkommende Substanzen in diesem Spektralbereich absorbieren.

3. Die dritte Gruppe von Analysen geht von der Uricasereaktion aus und weist das bei dieser Reaktion entstehende H_2O_2 (Wasserstoffperoxyd) durch ein Chromogen wie Ortho-Dianisidin in einer zweiten Reaktion unter Katalyse

von Peroxidase nach (27, 13).

Die Konzentration an oxydiertem Chromogen ist dann ein Maß für die Harnsäurekonzentration der Probe. Alle drei Gruppen von Reaktionen liefern ähnliche Extinktionswerte für gleiche Mengen an Harnsäuren. Keine der Bestimmungen ist besonders empfindlich. Die dritte Gruppe ist für den Ultramikrobereich zu kompliziert, weil sie zu viele Pipettierschritte beinhaltet. Die zweite Gruppe ist wegen der Notwendigkeit einer zweimaligen Messung - noch dazu im ultravioletten Spektralbereich - kaum auf Ultramikrodimensionen umzuarbeiten. Demzufolge modifizierten wir die Reaktion mit Phosphorwolframsäure.

Eine einfache Vorschrift für diese Phosphorwolframsäuremethode wurde von CARAWAY (8) angegeben. Bei dieser Bestimmung dient Soda (Na_2CO_3) zum Abpuffern der Phosphorwolframsäure auf einen alkalischen pH. Mit dieser Methode erhielten wir häufig einen Niederschlag, den wir auf die Präzipitation von WO_2 durch zu hohe Natriumcarbonatkonzentrationen zurückführen.

Wir ersetzen daher Natriumcarbonat durch Borat und kamen so zu brauchbaren Ergebnissen.

2.2.3.b; Reagentien

Phosphorwolframsäure : 10 gr Natriumwolframat ($Na_2WO_4 \times 2\ H_2O$) werden in 80 ml destilliertem Wasser gelöst. Diese Lösung wird nach Zugabe von 8.0 ml 85 % iger Phosphorsäure vorsichtig im Wasserbad für zwei Stunden erhitzt. Nach Abkühlung wird die Lösung mit aqua destillata ad 100 ml aufgefüllt. Bei Aufbewahrung in einer braunen Flasche ist das Reagenz für einige Monate haltbar.

Boratpuffer: 50 ml einer 0.4 molaren Borsäure werden mit 43.9 ml 0.4 normaler Natronlauge gemischt. Cave: Der Puffer muß frei von Kaliumchlorid sein, weil sonst ein Niederschlag von WO_2 entsteht.

Harnsäurestandard: 8.4 mg Harnsäure werden in 100 ml einer 0.1 molaren Lösung von sekundärem Natriumphosphat (Na_2HPO_4) gelöst. Die Stammlösung enthält dann Harnsäure in einer Konzentration von 0.5 mMol / l. In einer Verdünnungsreihe erhält man aus diesem Standard die einzelnen Eichlösungen. Im Kühlschrank aufbewahrt sind Standard und Eichlösungen etwa eine Woche haltbar.

2.2.3.c; Prozedur

Die gepufferte Phosphorwolframsäure ist sehr instabil. Wie aus Abbildung 1 (s.S. -12-) hervorgeht, sind nach zwanzig Minuten nur noch etwa 50 % reaktionsfähige Phosphorwolframsäure vorhanden. Aus diesem Grund mischten wir in einer Dosiervorrichtung, die aus zwei Spritzen mit einem Volumenverhältnis 16 / 1 (16 Teile Puffer zu einem Teil Phosphorwolframsäure) bestand, für jede Probe neue alkalische Phosphorwolframsäurelösung. Auf diese Weise konnten auch die Verarbeitungszeiten für jede Probe konstant gehalten werden.
Die gepufferte Lösung hat einen pH von etwa 8.9. Das stellt wie Abbildung 2 (s.S. -13-) zeigt das Optimum der stark pH-abhängigen Reaktion von Urat mit Phosphorwolframsäure dar. 1.0 - 1.5 ul ($1.0 - 1.5 \times 10^{-6}$ l) der alkalischen Phosphorwolframsäurelösung wurden in einer Teflonschale mit 15 - 40 nl ($15 - 40 \times 10^{-9}$ l) Probe gemischt und in eine Glaskapillare eingebracht. Diese Inkubationskapillare wurde auf beiden Seiten zugeschmolzen, um einen Flüssigkeitsverlust durch Verdunstung zu vermeiden. Nach 20 Minuten spätestens aber nach 50 Minuten wurde die optische Dichte des Reaktionsansatzes bei 755 nm (755×10^{-6} mm) in einem Zeiss-Spektralphotometer (PMQ II) mit der unten beschriebenen Küvette gegen eine Null-Lösung

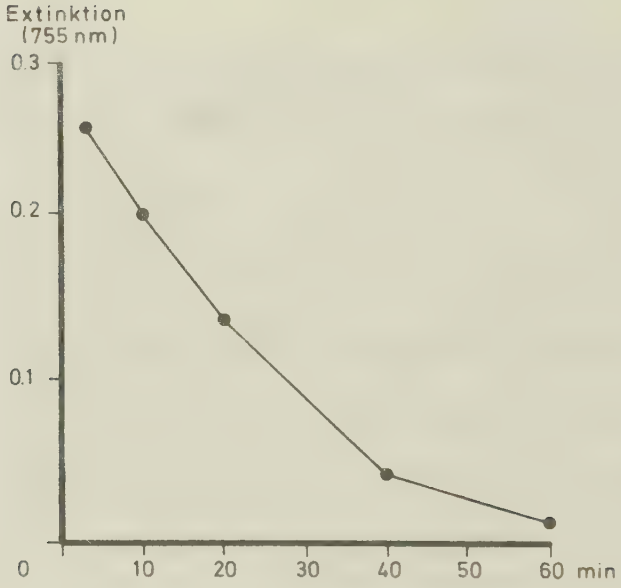

Abbildung 1

Zeitabhängigkeit des Zerfalles reaktionsfähiger Phosphorwolframsäure in alkalischer Lösung (pH 8.9). Es wurden gleiche Mengen Harnsäure zu boratgepufferter Phosphorwolframsäure, die " t " Minuten zuvor gemischt war, hinzugegeben.

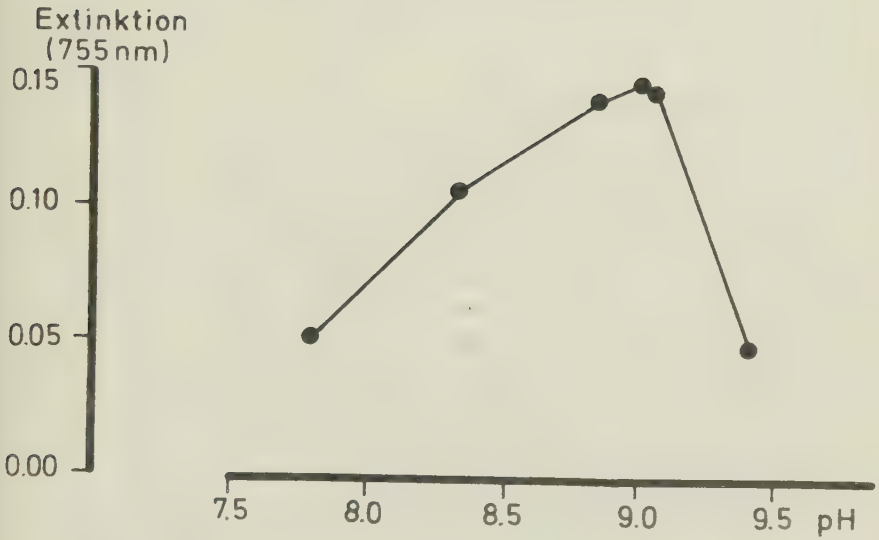

Abbildung 2

pH-Abhängigkeit der Reaktion von Phosphorwolframsäure mit Urat. Es wurden bei verschiedenen pH-Werten gleiche Mengen an Harnsäure vorgegeben.

gemessen. In Abbildung 3 (s.S. - 15 -) ist das Absorptionsspektrum des "Wolframblaufarbstoffes" aufgezeichnet.

2.2.3.d; Ultramikroküvette

In der Ultramikroanalyse wurde seit etwa 10 Jahren eine von ULLRICH und HAMPEL (46) beschriebene Ultramikroküvette mit einem Füllvolumen von ca. 5 ul (5×10^{-6} l) angewandt. Bei den geringen Harnsäurekonzentrationen in der tubulären Flüssigkeit und den kleinen Probenvolumina von nur 50 nl (50×10^{-9} l) resultiert bei Verwendung dieser Küvette eine zu geringe Extinktion. Daher konstruierten wir eine neue Ultramikroküvette. Diese Konstruktion benötigt bei gleichem Kapillarinnendurchmesser nur ein Fünftel, also ca. 1 ul (1×10^{-6} l), als Füllvolumen und da sie die doppelte Schichtdicke besitzt (ca. 11 mm) , liefert sie doppelt so hohe Extinktionswerte.

Beschreibung der Küvette:

(s.Abb. 4 - 6 , S. -16-, -17-) Über einen Adapter aus PVC wird der ebenfalls aus diesem Material gefertigte Küvettenhalter (1) im Strahlengang des Photometers (Zeiss PMQ II) durch die Federn (7) und (8) fixiert. Dieser Küvettenhalter trägt in einer Bohrung die eigentliche Küvette, eine Schwarzglaskapillare (2) mit einem

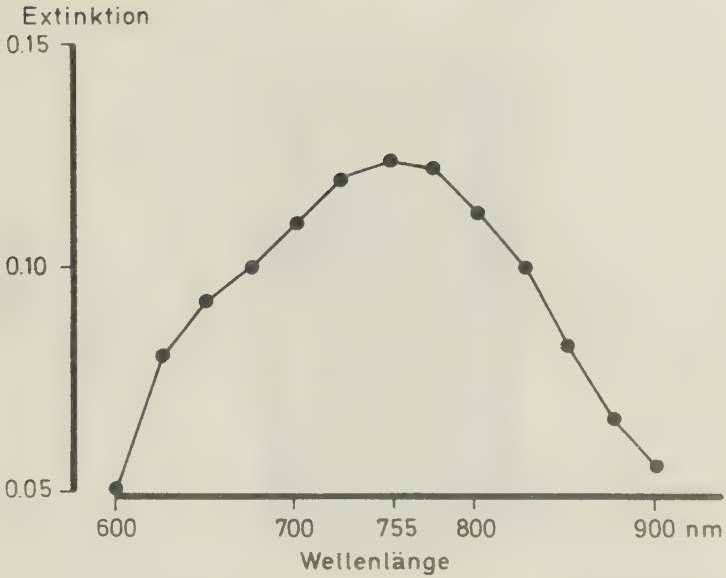

Abbildung 3

Absorptionsspektrum des Farbstoffes, der bei der Reaktion von boratgepufferter Phosphorwolframsäure mit Urat entsteht.

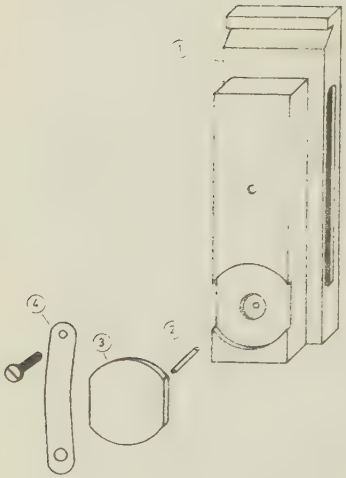

Abbildung 4

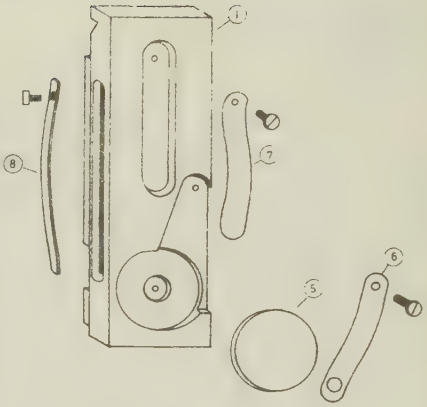

Abbildung 5

Ultramikroküvette, perspektivische Vorder- (Abb. 4) und Hinteransicht (Abb. 5).
In Abbildung 4, 5 und 6 bedeuten:
(1) Küvettenhalter, (2) Küvette aus Schwarzglas, (3) und (5) Quarzglasplatten, (4) und (6) Federn zum Fixieren dieser Glasplatten, (7) und (8) Federn, um den Küvettenhalter im Adapter des Photometers in einer festen Position zu halten.

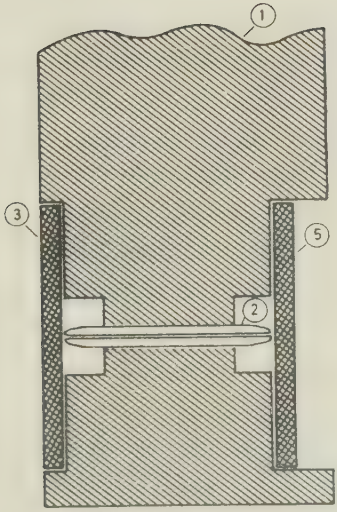

Abbildung 6

Ultramikroküvette, schematischer Aufbau
(1) Küvettenhalter
(2) Küvette, Schwarzglaskapillare
(3) und (5) Quarzglasplatten

Außendurchmesser von 1.0 mm, einer lichten Weite (Kapillarinnendurchmesser) von 0.2 - 0.3 mm und einer Länge von ca. 11 mm. Die beidseitigen Öffnungen der Kapillare sind verschlossen durch die Quarzglasplatten (3) und (5), die in ihrer Stellung durch die Federn (4) und (6) fixiert werden. Zylindrische Fräsungen, konzentrisch zu der Bohrung für die Küvette, sind im Küvettenhalter beidseitig angebracht. Die Länge der Schwarzglaskapillare ist so gewählt, daß zwischen ihren Enden und den Glasplatten ein Abstand von ca. 1/100 mm besteht. (s. Abb. 6, S. - 17 -)

Füllvorgang:

Gefüllt wird die Küvette von einer der beiden Seiten. Das jeweils gegenüberliegende Ende der Küvette ist dabei durch eine Glasplatte verschlossen. Die Probe wird aus der Inkubationskapillare über der Küvette ausgeblasen. Durch Kapillarkraft füllt sich die Küvette von selbst, sobald sich der Probentropfen über dem offenen Ende befindet. Durch die zweite Glasplatte wird die Küvette nun verschlossen.

Reinigung der Küvette:

Zur Reinigung wird die Küvette nach jeder Messung mit destilliertem Wasser durchspült und anschließend mit Preßluft getrocknet.

2.3; Diskussion zur chemischen Methodik

2.3.1; Ultramikroanalyse

Der Extinktionskoeffizient[§] , den wir mit der hier beschriebenen photometrischen Bestimmung erreichen, liegt im Bereich der Werte, die man mit den gebräuchlichen Verfahren in Makrodimensionen erhält. Er beträgt 9 l/mMol x cm . Die untere Nachweisgrenze der Methode liegt dank des geringen Endvolumens bei ca. 10^{-12} Mol Harnsäure, oder 10 nl (10 x 10^{-9} l) einer Probe von 0.1 mMol / l . Abbildung 7 (s.S. -20-) zeigt die Eichkurven der Versuche XVIII - XXI . Es sind aufgetragen die Konzentration in der Probe und die absolute Menge auf der Abszisse gegen die Extinktion bei 755 nm (755 x 10^{-6} mm) auf der Ordinate. Aus der Abbildung, in der verschiedene Eichkurven verschiedene Symbole haben, geht erstens hervor, daß die Abweichungen bei Doppeltwerten sehr gering sind und zweitens, daß die Extinktion für eine bestimmte Konzentration gut reproduzierbar ist. Trotz dieser guten Reproduzierbarkeit wurden bei jeder Bestimmung 6 Eichpunkte mitgemessen. Die Abhängigkeit der Farbstoffintensität von der Harnsäurekonzentration folgt im untersuchten Bereich dem Lambert-Beerschen Gesetz[§].

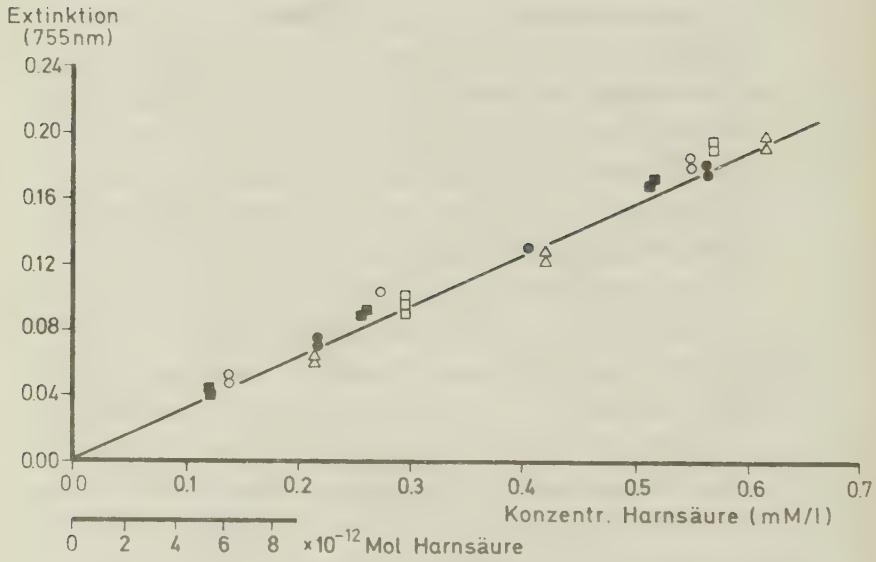

Abbildung 7

Eichkurven für Harnsäure mit Phosphorwolframsäurereagenz. Es sind eingezeichnet die Messpunkte der Versuche XVIII - XXI . Die Gerade ist die errechnete lineare Regression.
Auf der Abszisse ist neben der Harnsäurekonzentration auch die absolute Menge an Harnsäure aufgetragen.

Die Spezifität der zugrundeliegenden Redox-Reaktion ist von vornherein niedriger als die der beiden anderen oben geschilderten Nachweisverfahren, weil diese einen bzw. zwei enzymatische Reaktionsschritte beinhalten und das Enzym URICASE hoch substratspezifisch ist. Deshalb war zu überprüfen, ob in der Tubulusflüssigkeit enthaltene Substanzen die Redox-Reaktion mit Phosphorwolframsäure beeinflussen. Im physiologischen Konzentrationsbereich konnte für keine in der Tubulusflüssigkeit vorkommende Verbindung eine meßbare Farbstoffbildung festgestellt werden.
Die Aminosäuren Glycin und Cystein vermögen in hohen Konzentrationen von über ca. 10 mMol / l den Extinktionskoeffizienten zu erhöhen. Dieser Befund ist bedeutungslos, weil die physiologischen Konzentrationen dieser Aminosäuren bei der Ratte nur um bzw. unter 0.1 mMol / l betragen.
Allerdings muß an dieser Stelle darauf aufmerksam gemacht werden, daß einige Metalle wie z. B. Silber, Aluminium, Eisen und Kupfer Phosphorwolframsäure zu reduzieren vermögen. Dieser Beobachtung muß Rechnung getragen werden. So dürfen beispielsweise bei der Dosiervorrichtung für Phosphorwolframsäure und Puffer nur Glasspritzen Verwendung finden. Daneben

sollte auch die photometrische Messung nur in einer Glasküvette vorgenommen werden. Wir verwendeten aus diesem Grund eine Schwarzglasküvette anstelle der sonst gebräuchlichen Materialien wie Platin und Silber. Schwarzglas ist auch deshalb als Küvettenmaterial zu empfehlen, weil nach unseren Beobachtungen Platin, V2A-Stahl und Silber die schon entwickelte Farbstoffintensität vermindern.

2.3.2; Diskussion zur Ultramikroküvette
Der wesentliche Unterschied zwischen dieser Küvette und der älteren Konstruktion ist der, daß keine Füll- und Entleerungsstutzen verwendet werden. Das bringt vier Vorteile mit sich:

1. Bisher war das Kapillarvolumen deutlich kleiner als das gesamte Füllvolumen. Da wir keine Stutzen verwenden und das Benetzungsvolumen zwischen Glasplatte und Kapillare auf ein Minimum reduziert werden kann, ist das Füllvolumen annähernd gleich groß wie das Meßvolumen.
2. Nach jeder Messung kann die Kapillare leicht gereinigt werden.
3. Luftblasen im Lumen der Kapillare, deren Entstehung bisher durch den Abriß der Strömung am Übergang von Stutzen zu Kapillare begünstigt war, treten nicht mehr auf.
4. Die Herstellung dieses Ultramikroküvettentypes ist einfacher.

Das Konstruktionsprinzip ermöglicht den Bau von Küvetten mit einem Füllvolumen von weniger als 500 nl (500 x 10^{-9} l) . Allerdings ist auch der Bau von Küvetten mit wesentlich größerem Volumen nach diesem Prinzip interessant. Zu diesem Zweck verwendet man Kapillaren mit entsprechend größerem Außen- und Innendurchmesser. Denn die bisher gebräuchlichen Semi-Mikro-Küvetten sind meist als sehr schmale Trogküvetten gebaut. Man muß also im Photometer einen Vorspalt benutzen, was zur Folge hat, daß nur ein Bruchteil des Füllvolumens zur Messung ausgenutzt wird. Daneben ist der Füllvorgang bei solchen Trogküvetten schwierig, - es treten häufig Luftblasen auf - , und eine effektive Reinigung nach jeder Messung ist kaum möglich. Wir haben bisher unsere Küvetten-Konstruktion in einem Volumenbereich von 500 nl (500 x 10^{-9} l) bis 20 ul (20 x 10^{-6} l) erfolgreich erprobt.

2.3.3; Plasmaharnsäurebestimmung und Ultramikroanalyse

Da die Konzentration von Harnsäure im Plasma mit der enzymatischen Methode bestimmt wurde, überprüften wir

auch die für die Ultramikroanalyse verwendeten Eichlösungen, um einen systematischen Fehler auszuschließen, täglich mit dieser Uricasemethode auf ihren Gehalt an Harnsäure.

3; TIEREXPERIMENTELLE ERGEBNISSE

3.1; Harnsäureclearance

In Tabelle 1 (s. S. - 26 - , - 27 -) sind 25 Clearanceexperimente zusammengefaßt. Das Clearanceverhältnis von Harnsäure und Inulin liegt im Bereich von 0.12 - 0.75 , Mittelwert 0.40 ± 0.18 .

In Abbildung 8 (s. S. - 28 -) ist das Clearanceverhältnis von Harnsäure und Inulin gegen das U/P_{Inulin} - also den Diuresezustand - aufgetragen. Punkte, die vom gleichen Tier stammen, sind durch eine Gerade verbunden. Trotz der großen Streuung der Punkte wird deutlich, daß zwischen dem Ausmaß der Harnsäureausscheidung und dem Diuresezustand eine Korrelation besteht und zwar derart, daß mit steigender Diurese - abnehmendes U/P_{Inulin} - die Ausscheidung von Harnsäure ansteigt.

3.2; Mikropunktionsergebnisse

In Abbildung 9 (s. S. - 30 -) sind die Ergebnisse aus 51 Mikropunktionen graphisch dargestellt. TF/P_{HS} , das heißt der Quotient der Harnsäurekonzentration in der Tubulusflüssigkeit und im Plasma, ist gegen TF/P_{In} , den Konzentrationsquotienten von Inulin, aufgetragen. Die durchgezogene Gerade charakterisiert

Tabelle 1

Ergebnisse zur Harnsäureausscheidung im Urin.

Ratte Nr.	Harnsäurekonzentration (mMol / l)		U/P_{In}	$\frac{U/P_{HS}}{U/P_{In}}$
	Urin	Plasma		
II.	5.354	0.093	125	0.46
	6.544	0.093	115	0.62
III.	11.898	0.208	125	0.46
	5.949	0.208	75	0.38
V.	4.938	0.083	100	0.59
	2.559	0.089	87.5	0.33
XII.	5.741	0.092	282	0.22
XIII.	6.484	0.083	149	0.52
XV.	24.689	0.112	318	0.69
XVI.	21.535	0.102	420	0.50
	18.441	0.100	387.5	0.48
	22.368	0.102	315	0.69
	19.988	0.137	344	0.43
	22.012	0.140	261	0.60
XXIII.	8.209	0.068	800	0.15
	12.671	0.068	525	0.36
XXIV.	4.366	0.058	337	0.23
	3.879	0.058	185	0.36

Tabelle 1 Fortsetzung

Ratte Nr.	Harnsäurekonzentration (mMol / 1)		U/P_{In}	$\frac{U/P_{HS}}{U/P_{In}}$
	Urin	Plasma		
XXV.	6.187	0.065	414	0.23
	4.616	0.065	205	0.35
XXVI.	4.7	0.095	300	0.16
XXVII.	7.2	0.065	330	0.32
XXVIII.	6.2	0.089	270	0.27
	5.6	0.089	385	0.16
	5.2	0.089	460	0.13

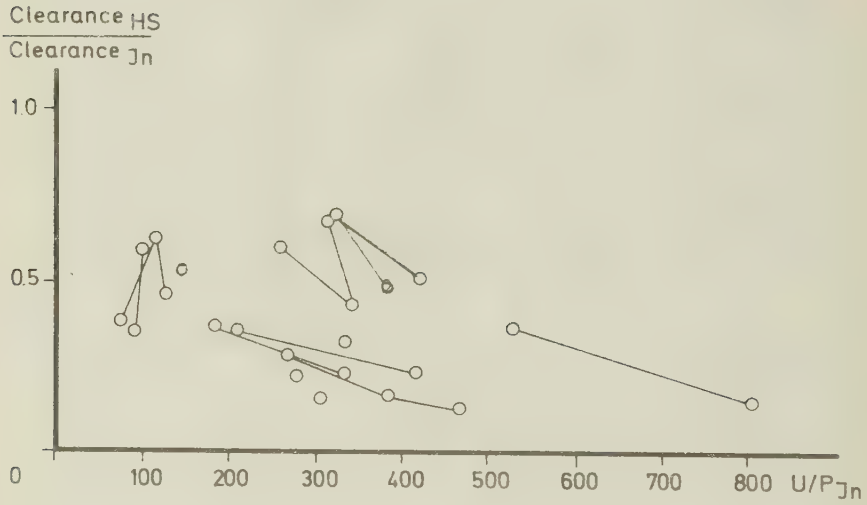

Abbildung 8

Abhängigkeit der Harnsäureausscheidung, gemessen als Clearanceverhältnis von Harnsäure und Inulin, von dem Diuresezustand (U/P_{Inulin}) . Punkte von einem Tier sind durch eine Gerade verbunden.

das 1/1 Verhältnis. Vers chiedene Tiere haben verschiedene Symbole. Deutlich wird, daß die Streuung der am einzelnen Tier gewonnenen Punkte geringer ist als die aller zusammen. Von den 51 Mikropunktionen liegen mehr als 80 % über der 1/1 Geraden, sprechen also für Sekretion. Die einzelnen Meßwerte und die daraus errechneten Größen sind in Tabelle 2 (s. S. -31- , -32-) zusammengefaßt.
In Abbildung 10 (s. S. -33-) ist TF/P_{HS} gegen die Tubuluslänge aufgetragen. Die gestrichelte Linie stellt die errechnete lineare Regression unserer TF/P_{In} - Quotienten gegen die Länge dar. Auch hier liegt wieder die überwiegende Mehrzahl der Punkte über der Inulingeraden und zeigt somit eine Harnsäure-Sekretion an.

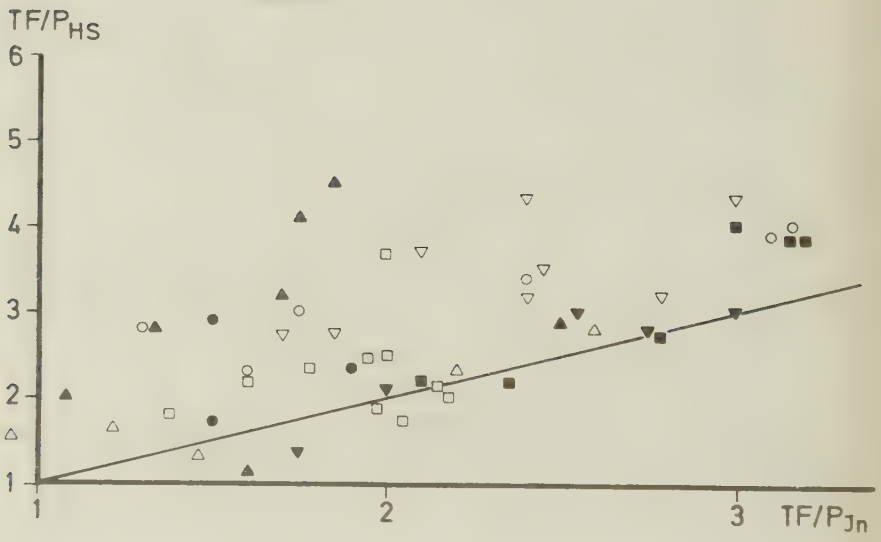

Abbildung 9

Mikropunktion am proximalen Tubulus.
Beziehung zwischen $TF/P_{Harnsäure}$, also dem Quotienten der Konzentration von Harnsäure im Tubulus und im Plasma, und dem TF/P-Quotienten für Inulin. Die eingezeichnete Gerade charakterisiert das 1/1 Verhältnis. Verschiedene Versuchstiere sind durch verschiedene Symbole gekennzeichnet.

Tabelle 2

Mikropunktionsergebnisse

Ratte Nr.	Probe	Länge (mm)	Harnsäurekonz. (mMol / l) TF	Plasma	TF/P_{HS}	TF/P_{In}	$\frac{TF/P_{HS}}{TF/P_{In}}$
V.	1	-	0.25	0.085	3.0	1.75	1.72
	2	-	0.19	0.085	2.3	1.6	1.44
	3	-	0.28	0.085	3.4	2.4	1.42
	4	-	0.25	0.085	2.8	1.3	2.15
	5	-	0.33	0.085	3.9	3.1	1.26
	6	-	0.33	0.085	3.9	3.15	1.24
X.	1	2.9	0.30	0.13	2.3	2.2	1.04
	2	1.0	0.20	0.13	1.55	0.92	1.68
	3	1.4	0.21	0.13	1.64	1.21	1.4
	4	4.2	0.35	0.13	2.75	2.6	1.06
	5	1.05	0.17	0.13	1.28	1.46	0.88
XI.	1	-	0.37	0.125	3.0	3.0	1.0
	2	-	0.17	0.125	1.35	1.75	0.77
	3	1.9	0.35	0.125	2.8	2.75	1.02
	4	-	0.37	0.125	3.0	1.55	1.94
	5	1.8	0.26	0.125	2.1	2.0	1.05
XIV.	1	2.1	0.30	0.125	2.36	1.77	1.33
	2	3.2	0.28	0.125	2.24	1.6	1.4
	3	2.7	0.24	0.125	1.9	1.97	0.96
	4	1.6	0.32	0.125	2.52	2.0	1.26
	5	-	0.22	0.125	1.78	1.38	1.29
	6	3.7	0.46	0.125	3.7	2.0	1.85
	7	2.7	0.21	0.125	1.67	2.05	0.81

Tabelle 2 Fortsetzung

Ratte Nr.	Probe	Länge (mm)	Harnsäurekonz. (mMol / l) TF	Plasma	TF/P_{HS}	TF/P_{In}	$\frac{TF/P_{HS}}{TF/P_{In}}$
XIV.	8	3.1	0.30	0.125	2.42	1.95	1.24
	9	-	0.25	0.125	2.0	2.2	0.91
	10	2.6	0.27	0.125	2.15	2.15	1.0
XV.	1	2.6	0.48	0.10	4.8	1.85	2.6
	2	2.95	0.43	0.10	4.3	1.75	2.43
	3	2.2	0.27	0.10	2.7	1.35	2.0
	4	2.9	0.20	0.10	2.0	1.08	1.85
	5	2.8	0.30	0.10	3.0	2.5	1.2
	6	1.0	0.11	0.10	1.1	1.6	0.69
	7	2.5	0.37	0.12	3.2	1.7	1.88
	8	2.8	0.35	0.125	2.8	1.6	1.75
XIX.	1	3.4	0.13	0.04	3.2	2.7	1.19
	2	3.4	0.14	0.04	3.5	2.45	1.43
	3	3.7	0.13	0.04	3.2	2.4	1.33
	4	3.0	0.17	0.04	4.25	2.4	1.77
	5	1.9	0.11	0.04	2.75	1.7	1.62
	6	-	0.15	0.04	3.7	2.1	1.76
	7	1.4	0.11	0.04	2.75	1.85	1.48
	8	-	0.17	0.04	4.35	3.0	1.45
	9	1.8	0.14	0.04	3.45	2.2	1.57
XXI.	1	3.4	0.28	0.09	3.14	2.7	1.16
	2	-	0.31	0.09	3.44	2.8	1.23
	3	3.75	0.34	0.09	3.85	3.15	1.22
	4	-	0.36	0.09	4.0	3.0	1.33
	5	3.7	0.35	0.09	3.9	3.2	1.22
	6	1.5	0.20	0.09	2.2	2.35	0.94
	7	-	0.24	0.09	2.7	2.78	0.97
	8	1.7	0.20	0.09	2.2	2.1	1.05

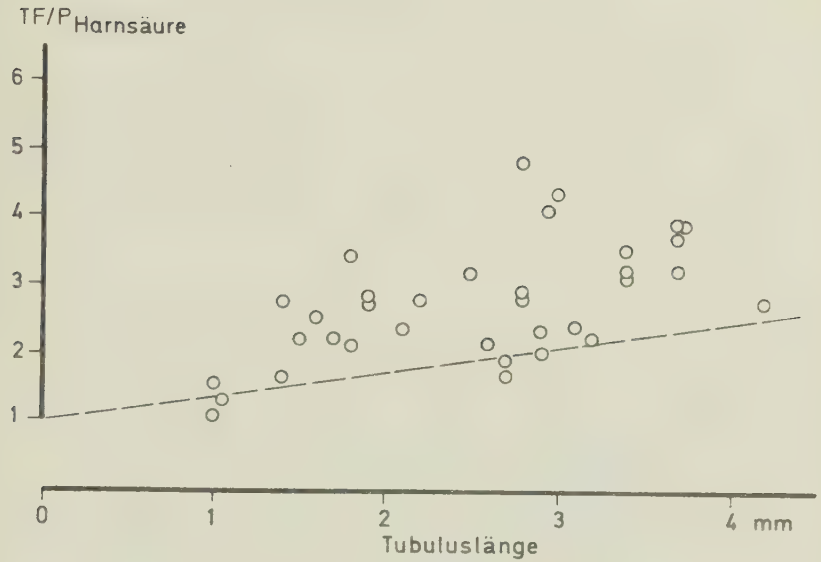

Abbildung 10

Mikropunktion am proximalen Tubulus.
Beziehung zwischen Tubuluslänge und $TF/P_{Harnsäure}$ (Quotient aus Harnsäurekonzentration in Tubulus und Plasma) . Die gestrichelte Gerade ist die errechnete lineare Regression unserer TF/P_{Inulin} - Werte gegen die Tubuluslänge.

4; DISKUSSION DER TIEREXPERIMENTELLEN BEFUNDE

4.1; Harnsäurebehandlung im proximalen Tubulus

Obwohl bei unseren Versuchstieren die Harnsäure-clearance immer niedriger war als die von Inulin, Harnsäure also in der Bilanz resorbiert wurde, fanden wir im proximalen Tubulus Sekretion von Harnsäure. Dieser Befund steht damit in krassem Gegensatz zu den aus Stop Flow Untersuchungen abgeleiteten Vorstellungen über den Harnsäuretransport. (49, 52). (s. auch Abb. 9) .

In Abbildung 10 (s. S. -35-) ist die Abhängigkeit des TF P - Quotienten der Harnsäure von der Länge dargestellt. Aus diesem Bild geht analog zu Abbildung 9 die Sekretion von Harnsäure im proximalen Tubulus hervor. Daneben zeigt die Darstellung, daß noch bei 1 mm Tubuluslänge das TF P von Harnsäure im Bereich des $TF\ P_{Inulin}$ liegt. Extrapolation des Kurvenverlaufes zum Glomerulum hin würde ergeben, daß das $TF\ P_{Harnsäure}$ an der Filtrationsstelle unter 1 liegt. Das würde bedeuten, daß für Harnsäure keine vollständige Filtrierbarkeit besteht, was Befunden von YÜ (50) widerspricht. Eine nur partielle Filtration könnte durch die Bindung von Harnsäure an Plasmaproteine entsprechend der Angaben von ALVSAKER (1, 2) , verursacht sein.

proteine entsprechend der Angaben von ALVSAKER (1, 2), verursacht sein.

Trotz unserer Punktionsbefunde, die eindeutig für eine Harnsäuresekretion am proximalen Tubulus sprechen, ist auch am Vorhandensein eines proximalen Resorptionsmechanismus kaum zu zweifeln. Denn in Mikroperfusionsexperimenten an der Rattenniere mit Gleichgewichtslösung[§], die 2-^{14}C- markierte Harnsäure enthielt, konnte gezeigt werden (24), daß die Aktivität der Lösung, also die Konzentration an markierter Harnsäure, mit der Länge abnahm. Bei diesen Untersuchungen errechnet sich bei einem pH von 6.8 eine Permeabilität[§] von 11 x 10^{-5} cm/sec. für den Ausstrom von Harnsäure. Nach etwa 4 mm Perfusionsstrecke sind nur mehr 50 % der Ausgangskonzentration vorhanden; dabei ist der prozentuale Konzentrationsabfall unabhängig von der Ausgangskonzentration. Unseren Befund der proximalen Sekretion unter freiem Fluß müssen wir unter Berücksichtigung dieser Mikroperfusionsexperimente dahingehend interpretieren, daß er das Resultat dreier Flüsse ist:

1. Ein Wasserausfluß, der zur Konzentrierung des Filtrates führt und nach unseren TF/P_{Inulin} - Messungen das Volumen endproximal auf ca. 35 % des Ausgangvolumens verringert.

2. Ein Resorptionsfluß (s. oben).
3. Ein Sekretionsfluß, der stärker sein muß als der Resorptionsfluß, um die von uns gemessene Sekretion zu erklären.

Es erscheint also sinnvoll, diese Sekretion im proximalen Tubulus als Nettosekretion zu bezeichnen, um damit auszudrücken, daß sie das Ergebnis zweier entgegengerichteter Transporte ist.

Schon frühere Untersucher forderten für Hund und Mensch proximale Resorption in Verbindung mit Sekretion (34, 52, 37). Allerdings wurde dabei der Sekretion rein passiver Charakter zugeschrieben, während die Resorption aktiv sein sollte. Wir müssen diese Vorstellung ablehnen:

1. Weil nach unseren Messungen direkt am proximalen Tubulus dort eine Nettosekretion vorhanden ist.
2. Könnte eine rein passive Sekretion kaum die bei osmotischer Diurese beobachteten Clearances von Harnsäure, die über denen von Inulin lagen, erklären. (25, 21). Auf der anderen Seite müssen geringere Harnsäureclearances nicht zwangsläufig für eine aktive Resorption sprechen, weil die treibende Kraft für die Resorption allein in der Konzentrierung der Tubulusflüssigkeit durch Wasserausfluß liegen kann.

4. 2; Sekretionsmechanismus

Stop Flow - und Clearanceuntersuchungen am Huhn (35), Meerschweinchen (33), Kaninchen (3, 29, 30, 31, 32, 38) und am Dalmatiner Hund (34, 23) und auch Nierenschnittuntersuchungen (5, 12, 39, 40) legen nahe, daß es für diese Tiere einen aktiven Sekretionsmechanismus für Harnsäure gibt. Das Transportsystem soll hierbei das für schwache organische Säuren wie Salicylat (30), Phenolrot (28), Diodrast (14), Paraaminohippursäure (45, 9), Probenecid (30) und viele andere (11, 47) sein. Diese Annahme wurde durch die deutliche Beeinflussung der Harnsäureausscheidung durch solche Drogen bestätigt.
Die Frage, ob auch bei der Ratte diese Art von Sekretion besteht, ist noch nicht geklärt. Immerhin konnte am Hund, der ein ähnliches Gesamtverhalten wie die Ratte hat, gezeigt werden, daß Para-aminohippursäure (51) und unter gewissen Bedingungen auch Probenecid (25) die Harnsäureexkretion vermindern. Uns scheint daher die Annahme berechtigt, daß auch bei der Ratte die Sekretion über dieses Transportsystem erfolgt.

4. 3; Harnsäureclearance

Wie viele andere Tiere zeigt auch die Ratte eine

renale Nettoresorption von Harnsäure. Das heißt, es wird in der Bilanz nur ein Teil der filtrierten Harnsäuremenge über die Niere ausgeschieden. Nach unseren Ergebnissen beträgt die Resorption mehr als 50 % des filtrierten Loads[§]. Die Tatsache, daß die Harnsäureausscheidung, die von Tier zu Tier starke Schwankungen aufweist, mit steigender Diurese zunimmt (s. Abb. 8), wurde auch in früheren Untersuchungen nachgewiesen. (49 , 34) . Dieser Befund wurde auch schon am Menschen erhoben (44) . GUTMANN (21) fand unter osmotischer Diurese, Sulfinpyrazongabe und Harnsäureinfusion Uratclearances, die das 1.13 fache der Inulinclearance betrugen. Diese Befunde können wir gut mit unseren proximalen Punktionsergebnissen erklären. Denn bei steigender osmotischer Diurese nähert sich die Zusammensetzung des Endurins immer mehr der proximalen Tubulusflüssigkeit. Die dort durch Sekretion aufgebaute erhöhte Harnsäure Konzentration bleibt dann bis zum Endurin erhalten.

4.4; Harnsäure-Nettoresorption

Da unsere Clearanceexperimente in der Bilanz eine Resorption von Harnsäure ergeben, unsere Punktionsergebnisse aber proximale Sekretion zeigen, muß nach

dem Ort der eigentlichen Resorption gefragt werden. Der distale Tubulus kommt hierfür Untersuchungen von OELERT (36) zufolge kaum in Frage; denn in diesem Nephronabschnitt besteht ein nur sehr geringer Harnsäureausstrom. Dagegen könnte die Henlesche Schleife eine hohe Durchlässigkeit für Harnsäure besitzen. Für diese Annahme spricht erstens der Befund von SCHNERMANN (42), daß in diesem Teil des Nephrons (Henlesche Schleife) eine hohe Permeabilität für PAH (Paraaminohippursäure) besteht. Daneben ergaben auch Untersuchungen an Schnitten aus dem Nierenmark (15, 7), daß dort die Harnsäurekonzentration um mehr als 200 % höher ist als in der Nierenrinde. Aus diesen Messungen kann erstens der Schluß gezogen werden, daß die Resorption von Harnsäure - entsprechend unseren Mikropunktionsergebnissen - nicht proximal erfolgt. Zweitens kann man daraus folgern, daß aller Wahrscheinlichkeit nach die Nettoresorption von Harnsäure in der Henleschen Schleife erfolgt, wenn man voraussetzt, daß der distale Tubulus und auch das Sammelrohr eine niedrige Permeabilität für Harnsäure aufweisen.

5; ZUSAMMENFASSUNG

Entgegen der bisher vertretenen Ansicht, daß der renale Harnsäuretransport im Wesentlichen aus einer aktiven Resorption von Harnsäure im proximalen Tubulus besteht, ergaben unsere Mikropunktionen direkt am Nephron der Rattenniere, daß Harnsäure im proximalen Tubulus ähnlich wie andere schwache organische Säuren (z.B. Salicylsäure, Chlorothiacid, Phenolrot, Para-aminohippursäure, Diodrast u.v.a.) sezerniert wird. Die Vorstellung also, daß die im Vergleich zur filtrierten Menge geringe Ausscheidung durch eine proximale Resorption verursacht werde, ist abzulehnen. Der eigentliche Ort der Resorption dürfte, da für den distalen Tubulus nur eine geringe Durchlässigkeit (Permeabilität) für Harnsäure besteht, in der Henleschen Schleife zu suchen sein.

Zur Durchführung unserer Untersuchungen wurde eine neue Methode zur chemischen Ultramikroanalyse von Harnsäure entwickelt. Diese Methode gestattet es aus einem Probenvolumen von 15 - 40 nl ($15 - 40 \times 10^{-9}$ l) Harnsäuremengen bis zu 10^{-12} Mol quantitativ nachzuweisen.

Neben der Ausarbeitung des chemischen Analyseweges

war die Entwicklung einer neuen Ultramikroküvette für photometrische Messungen mit einem Füllvolumen von 1 µl (1×10^{-6} l) notwendig. Die Verwendung dieser Küvette erhöht die Empfindlichkeit aller gebräuchlichen photometrischen Ultramikroanalysen um den Faktor 5 .

6; ANHANG

6.1; Begriffserläuterungen

S. -1- "Inulin-Clearance".

Da Inulin in der Niere nur filtriert und weder resorbiert noch sezerniert (18) , ist die Menge Inulin, die im Urin ausgeschieden wird gleich der filtrierten. Es gilt also:

$$\frac{M}{t} = GFR \times (P)_{In} = \frac{V}{t} \times (U)_{In}$$

Dabei bedeutet GFR Glomerulumfiltrat mit der Dimension einer Stromstärke (Vol / t) , $(P)_{In}$, $(U)_{In}$ die Konzentrationen von Inulin in Plasma bzw. Urin.

$\frac{V}{t}$ ist das Urinvolumen pro Zeiteinheit. Durch Messung von (P) , (U) und $\frac{V}{t}$ erhält man GFR als:

$$GFR = \frac{(U)}{(P)_{In}} \times \frac{V}{t} = \text{Inulinclearance}$$

Die Clearance einer Substanz ist das Volumen Blutplasma pro Zeiteinheit, das über die Niere von dieser Substanz durch Ausscheidung befreit wird.

Substanzen, die eine höhere Clearance als die von Inulin haben, werden bilanzmäßig sezerniert, solche mit einer niedrigeren Clearance resorbiert.

S. - 2 - "Stop-Flow-Technik"

Bei dieser Technik wird nach einer Kontrollperiode der Ureter kurzzeitig abgeklemmt und damit der freie Harnfluß (Free-Flow) gestopt. Nach Öffnung der

Ureterklemme wird der Urin in kleinen Portionen, die jetzt bestimmten Nephronabschnitten entsprechen sollen, gesammelt. Die ersten Proben enthalten somit Urin aus distalen Abschnitten, die letzten aus proximalen. Schließlich kommt wieder der Free-Flow-Urin der Kontrollperiode. Die Methode geht von der Vorstellung aus, daß verlängerte Kontaktzeit der Tubulusflüssigkeit an den Tubulusepithelien die Transportvorgänge deutlicher werden läßt.

S. -2- "Osmotische Diurese"

Durch schlecht resorbierbare Teilchen wie Mannit in plasmaisotoner Lösung oder auch durch sehr hohe Konzentration limitiert resorbierbarer Teilchen wie Glucose wird die Wasserresorption im Nephron eingeschränkt. Dieses Phänomen wird als osmotische Diurese bezeichnet.

S. -5- "Nierenfunktion"

Sie wird mit Lisamingrünlösung geprüft. Als proximale Passagezeit wird der Zeitraum zwischen dem Auftauchen des Farbstoffes in den Kapillaren der Nierenoberfläche bis zum sternförmigen Zusammenfließen der gefärbten Tubulusflüssigkeit in den endproximalen Abschnitten bezeichnet. Der zweite Wert ist die Zeit, die bis zum Erscheinen des Farbstoffes in distalen Tubuli an der Nierenoberfläche vergeht.

S. -8- "Extinktion", "Optische Dichte"
Die Extinktion ist ein Maß für die Lichtschwächung durch ein optisch dichtes Medium. Setzt man die Anfangsintensität des Lichtes gleich I_o und die Restintensität nach Passage des Lichtes durch das absorbierende Medium = I, so gilt für die Extinktion:
$E = \lg \frac{I_o}{I}$. Die Extinktion ist nach dem LAMBERT - BEER´schen Gesetz der Konzentration des lichschwächenden Mediums (Farbstoff) und der Schichtdicke proportinal.
Der Proportionalitätsfaktor ε wird als Extinktionskoeffizient bezeichnet.

$$E = \varepsilon \times c \times d$$

Aus dieser Gleichung geht die Dimension von ε hervor. $(\frac{l}{Mol \times cm})$. Der Extinktionskoeffizient entscheidet über die Steilheit der Beziehung zwischen Konzentration eines Farbstoffes und der Extinktion. (sc. nur unter der Annahme einer konstanten Schichtdicke)
S. -19- "Extinktionskoeffizient" (s. oben unter Extinktion)
S. -19- "Lambert Beer´sches Gesetz" (s. oben unter Extinktion)
S. -35- "Gleichgewichtslösung"
Gleichgewichtslösung ist eine Lösung, die Wasserfluß verhindert durch osmotisch wirksame Teilchen, die nicht resorbierbar sind, den Tubulus also nicht verlassen können; und die Natrium in der Gleichgewichtskonzentration enthält. (Für den proximalen Tubulus 110 meq/1)

S. -35- "Permeabilität"

Diese Größe ergibt sich aus dem ersten FICK´schen Gesetz: $\frac{n}{t} = c \times P \times F$. Hierbei bedeuten $\frac{n}{t}$ die Zahl der Teilchen, die pro Zeiteinheit die Diffusionsschranke überwinden, c = die Konzentration, die diese Diffusion verursacht, P = Permeabilität oder Durchlässigkeit der Diffusionsschranke, F = Austauschfläche. Die Dimension für die Permeabilität ist obiger Gleichung zufolge ($\frac{cm}{sec.}$). Für Resorptionsvorgänge am Tubulus wird die Permeabilität aus dem Konzentrationsabfall errechnet. Sie ist ein Maß für die transzelluläre Durchlässigkeit.

S. -38- "Filtriertes Load"

Filtriertes Load ist die in der Niere pro Zeiteinheit filtrierte Menge eines Stoffes.

$$\text{Filtr. Load} = GFR \times (UF)$$

(UF) ist die Konzentration des Stoffes im Ultrafiltrat.

6.2; Abkürzungen

(P) = Plasmakonzentration (U) = Urinkonzentration

TF/P = Quotient der Konzentration in Tubulusflüssigkeit und Plasma

U/P = Quotient der Konzentration in Urin und Plasma

HS = Harnsäure In = Inulin

$\frac{U/P_{HS}}{U/P_{In}}$ = das Verhältnis von Harnsäure und Inulinkonzentrierung im Endurin.

$\frac{TF/P_{HS}}{TF/P_{In}}$ = das Verhältnis von Harnsäure und Inulinkonzentrierung im Tubulus.

C = Clearance

$\frac{C_{HS}}{C_{In}}$ = Clearanceverhältnis von Harnsäure und Inulin, zahlenmäßig ist dieser Wert gleich dem Quotienten $\frac{U/P_{HS}}{U/P_{In}}$.

7; LITERATURVERZEICHNIS

1. ALVSAKER, J. O. :
Uric acid in human plasma, isolation and identifikation of plasma proteins interacting with urate.
Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 18, 227 (1966)

2. ALVSAKER, J. O. :
Uric acid in human Plasma, III. Investigations on the interaction between the urate ion and human albumin.
Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 17, 467 (1965)

3. BEECHWOOD, E. C., W. O. BERNDT and G. H. MUDGE :
Stop flow analysis of tubular transport of uric acid in rabbits.
Am. J. Physiol. 207, 1265 (1964)

4. BERGER, L., T. F. YÜ, A. ALSMON, S. KUPFER and A. B. GUTMAN :
Effect of reducing renal arterial blood pressure by balloon catheter on urate excretion in the dog.
Proc. Soc. exper. Biol. 115, 5 (1964)

5. BERNDT, W. O., E. C. BEECHWOOD :
Influence of inorganic electrolytes and ouabain on uric acid transport.
Am. J. Physiol. 208, 642 (1965)

6. BOTT, P. A. :
Renal excretion of creatinine in necturus.
Am. J. Physiol. 168, 107 (1952)

7. CANNON, P. J., P. S. SYMCHYA and F. E. DEMARTINI :
The distribution of urate in human and primate kidney.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 129, 278 (1968).

8. CARAWAY, W. T. :
Determination of uric acid in serum by a carbonate method.
Am. J. Clin. Pathol. 25, 840 (1955)

9. CHASIS, H., J. REDISH, W. GOLDRING, A. RANGES and H. W. SMITH:
The use of sodium p-aminohippurate for the functional evaluation of the human kidney.
J. Clin. Invest. 24, 583 (1945)

10. DAVIS, B. B., J. B. FIELD, G. R. RODNAN and L. H. KEDES :
Lokalization and pyracinamide inhibition of distal transtubular movement of uric acid 2- C^{14} with a modified stop-flow technique :
J. Clin. Invest. 44, 716 (1965)

11. DEETJEN, P. :
Tubulärer Transport schwacher organischer Säuren und Basen.
3. Symposion der Ges. f. Nephrologie, 19 (1964)

12. DESPOPULUS, A. :
Renal excretory transport of organic acids, inhibition by oxypurines.
Am. J. Physiol. 197, 1107 (1959)

13. DOMAGK, G. F. and H. H. SCHLICKE :
A colorimetric method using uricase and peroxidase for the determination of uric acid.
Anal. Biochem. 22, 219 (1968)

14. ELSOM, K. A., P. A. BOTT and E. H. SHIELDS :
On the excretion of skiodan, diodrast and hippuran by the dog.
Am. J. Physiol. 115, 548 (1936)

15. EPSTEIN F. H. and G. PIGEON :
Experimental urate nephropathy. Studies of the distribution of urate in renal tissue.
Nephron I., 144, (1964)

16. FOLIN, O. and W. DENIS :
A new (colorimetric) method for the determination of uric acid in blood.
J. Biol. Chem. 13, 469 (1912)

17. FÜHR, J., J. KACZMARCZYK und C. D. KRÜTTGEN :
Eine einfache colorimetrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern.
Klin. Wochenschr. 33, 729 (1955)

18. GUTMAN, Y., C. W. GOTTSCHALK and W. E. LASSITER :
Micropuncture study of inulin absorption in the rat kidney.
Science 147, 753 (1965)

19. GUTMAN, A. B., T. F. YÜ and J. H. SIROTA :
A study by simultaneous clearance techniques of salicylate excretion in man. Effect of alkalinization of the urine by bicarbonate administration, effect of Probenecid.
J. Clin. Invest. 34, 711 (1955)

20. GUTMAN, A. B., T. F. YÜ :
Renal function in gout, with a commentary on the renal regulation of urate excretion and the role of the kidney in the pathogenesis of gout.
Am. J. Med. 23, 600 (1957)

21. GUTMAN, A. B., T. F. YÜ and L. BERGER :
Tubular secretion of urate in man.
J. Clin. Invest. 38, 1778 (1959)

22. HILGER, H. H., J. D. KLÜMPER und K. J. ULLRICH :
Wasserrückresorption und Jonentransport durch die Sammelrohrzellen der Säugetierniere (Mikroanalytische Untersuchungen).
Pflügers Arch. ges. Physiol. 267, 218 (1958)

23. KESSLER, R. H., K. HIERHOLZER and R. S. GURD :
Lokalization of urate transport in the nephron of mongrel and Dalmatian dog kidney.
Am. J. Physiol. 197, 601 (1959)

24. LANG, F., R. GREGER and P. DEETJEN :
Secretion and reabsorption of uric acid in the proximal tubule of the rat kidney. Microperfusionstudies.
Pflügers Arch. ges. Physiol. im Druck

25. LATHEM, W., B. B. DAVIS and G. P. RODNAN :
Renal tubular secretion of uric acid in mongrel dog.
Am. J. Physiol. 109, 9 (1960)

26. LIDDLE, L., J. E. SEEGMILLER and L. LASTER :
J. Lab. & Clin. Med. 54, 903 (1959)

27. LORENTZ, K. and W. BERNDT :
Enzymic determination of uric acid by a coloric method.
Anal. Biochem. 18, 58 (1967)

28. MARSHALL, E.K. Jr. and J.L. VICKERS :
The mechanism of the elimination of phenolsulphonphthalein by the convoluted tubule.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 34, 1 (1923)

29. MØLLER, J. V. :
The effects of D- and L-Lactate and osmotic diuresis on uric acid clearance in rabbit.
Act. Physiol. Scand. 54, 30 (1962)

30. MØLLER, J. V. :
The relation between secretion of urate and p-aminohippurate in the rat kidney.
J. Physiol. 192, 502 (1967)

31. MØLLER, J. V. :
The renal accumulation of urate and p-aminohippurate in the rabbit.
J. Physiol. 192, 519 (1967)

32. MØLLER, J. V. :
The tubular site of urate transport in the rabbit kidney and the effect of probenecid on urate secretion.
Acta Pharm. et Toxicol. 23, 329 (1966)

33. MUDGE, G. H., B. Mc. ALARY and W. O. BERNDT :
Renal transport of uric acid in the guinea pig.
Am. J. Physiol. 214, 875 (1968)

34. MUDGE, G. H., J. CUCCHI, M. M. PLATTS, J. M. B. O'CONELL and W. O. BERNDT :
Renal excretion of uric acid in the dog.
Am. J. Physiol. 215, 404 (1968)

35. NECHAY, B. R. and L. NECHAY :
Effect of Probenecid, Na-Salicylate, 2-4-Dinitrophenol and Pyrazinamide on renal secretion of uric acid in chickens.
J. Pharm. Exp. Ther. 126, 291 (1959)

36. OELERT, H., K. BAUMANN und D. GELKE :
Permeabilitätsuntersuchungen einiger schwacher organischer Säuren aus dem distalen Konvolut der Rattenniere.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 307, 178 (1969)

37. PODEVIN, R., F. PAILLARD, A. HORNYCH, R. ARDAILLON, J. FONTANELLE, et G. RICHET :
Cinétique d'apparition dans l'urine de l'acide Para-aminohippurique (PAH) et de l'acide urique 2-^{14}C chez l'homme. Effets de l'acide acitylsalicylique et de la Pyrazinamide.
Rev. Fran. d'Etudes Clin. et Biol. 13, 515 (1968)

38. POULSEN, H., E. PRAETORIUS :
Tubular excretion of uric acid in rabbits.
Acta Pharm. et Toxicol. 10, 371 (1954)

39. PLATTS, M. M., and G. H. MUDGE :
The accumulation of uric acid by rabbit kidney slices in vitro.
Fed. Proc. 19, 367 (1960)

40. PLATTS, M. M. and G. H. MUDGE :
Accumulation of uric acid by slices of kidney cortex.
Am. J. Physiol. 200, 387 (1961)

41. PRAETORIUS, E. and H. POULSEN :
Enzymatic determination of uric acid.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5, 273 (1953)

42. SCHNERMANN, J. und K. THURAU :
Die PAH Kontentration im vasa recta Blut der Goldhamsterniere.
3. Symposion der Ges. für Nephrolog. 177 (1964)

43. SHANNON, J. A. :
The excretion of uric acid by the chicken.
J. Cell. Comp. Physiol. 11, 135 (1938)

44. SKEITH, M.P., L. A. HEALY and R. E. CUTLER :
Urate excretion during mannitol and glucose diuresis.
J. Lab. Clin. Med. 70, 213 (1967)

45. SMITH, H. W., N. FINKELSTEIN, L. ALIMINOSA, B. CRAWFORD, and M. GRABER :
The renal clearances of substituted hippuric acid derivates and other aromatic acids in dog and man.
J. Clin. Invest. 24, 388 (1945)

46. ULLRICH, K. J. und A. HAMPEL :
Eine einfache Mikroküvette für Monochromator Zeiss und Beckmann Modell DU.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 268, 177 (1958)

47. ULLRICH, K. J. and D. J. MARSH :
Excretion of organic compounds.
Annual Review of Physiol. 25, 1715 (1963)

48. WIRZ, H. :
Tubulusfunktion und Membrantransport der Harnkonzentrierung.
Handbuch der Inneren Medizin VIII / 1, 115 (1968)

49. YÜ, T.F., L.BERGER, S.KUPFER and A.B.GUTMAN :
Tubular secretion of urate in the dog.
Am. J.Physiol. 199, 1199 (1960)

50. YÜ, T.F., and A.B.GUTMAN :
Ultrafiltrability of plasma urate in man.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 84, 21 (1953)

51. ZINS, G.R. and I.M.WEINER :
Carriermediated entry of urate into proximal tubule of mongrel dog.
Fed. Proc. 26, 265 (1967)

52. ZINS, G.R. and I.M. WEINER :
Bidirektional urate transport limited to the proximal tubule in dog.
Am. J.Physiol. 215, 411 (1968)

Lebenslauf :

Am 3. Januar 1946 wurde ich als viertes Kind des Direktors Vinzenz Greger und seiner Ehefrau Maria Greger, geb. Keutler, in Regensburg geboren. In Bokenem/Harz trat ich 1952 in die Volksschule ein. Nach zwei Jahren wechselte ich in die Volksschule in Ravensburg/Baden-Württemberg über. Nacheinander besuchte ich ab 1956 folgende humanistischen Gymnasien: Bis 1958 die Klosterschule Weingarten, bis 1963 das Spohngymnasium in Ravensburg, ab 1963 das Heinrich-Suso-Gymnasium Konstanz. Dort machte ich 1966 das Abitur. Anschließend begann ich in München das Medizinstudium. Voraussichtlich werde ich mein Staatsexamen im Frühjahr 1972 abgeschlossen haben.